

⑫ 公開特許公報(A)

平1-106826

⑬ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成1年(1989)4月24日

A 61 K 35/14

A-8213-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称 血液保存液組成物

⑯ 特 願 昭62-263695

⑰ 出 願 昭62(1987)10月21日

⑱ 発明者 永井 博史 静岡県富士市大淵2656番地の1 テルモ株式会社内
 ⑱ 発明者 窪田 好記 静岡県富士市大淵2656番地の1 テルモ株式会社内
 ⑱ 発明者 田村 容子 静岡県富士市大淵2656番地の1 テルモ株式会社内
 ⑱ 発明者 木村 昭雄 和歌山県和歌山市善明寺727-103
 ⑲ 出願人 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号
 ⑲ 出願人 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号
 ⑲ 代理人 弁理士 八田 幹雄

明細書

1. 発明の名称

血液保存液組成物

2. 特許請求の範囲

(1) 一般式(I)



(但し式中RおよびR'はそれぞれ炭素数3以上の鎖式炭化水素基であり、かつRとR'との炭素数の和が11~30である。)で表されるモノカルボン酸エステルからなる溶血防止剤と、他の血液保存液成分が配合されていることを特徴とする血液保存液組成物。

(2) 血液保存液が抗凝固保存液である特許請求の範囲第1項に記載の血液保存液組成物。

(3) 他の血液保存液成分として、クエン酸ナトリウム、クエン酸、ブドウ糖、リン酸一ナトリウム、アデニン、塩化ナトリウム、マンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖および乳糖からなる群から選ばれた少なくとも1種の化合物を含有するものである特許請求の範

囲第1項または第2項に記載の血液保存液組成物。

(4) ACD液、CPD液、CPDA-1液、CPDA-2液、SAG液、およびマンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖または乳糖を添加してなるSAG液からなる群から選ばれた基本液に一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物を配合するものである特許請求の範囲第1項に記載の血液保存液組成物。

(5) 一般式(I)におけるRまたはR'の少なくとも一方が分岐構造を有するものである特許請求の範囲第1項~第4項のいずれかに記載の血液保存液組成物。

(6) 一般式(I)で表わされる化合物が、イソプロピルイソラウレート、イソプロピルオレエート、2-エチルヘキシルイソステアレートまたは2-エチルヘキシル-2-エチルヘキサノエートである特許請求の範囲第1項~第5項のいずれかに記載の血液保存液組成物。

(7) 一般式(I)で表されるモノカルボン酸エ

ステル化合物が、最終濃度で $100\mu\text{M}\sim 10\text{mM}$ となるように配合されてなる特許請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の血液保存液組成物。

(8)一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物が、最終濃度で $400\mu\text{M}\sim 4\text{mM}$ となるように配合されてなる特許請求の範囲第5項に記載の血液保存液組成物。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は血液保存液組成物に関するものである。詳しく述べると本発明は特に赤血球の保存性に優れた安全性の高い血液保存液組成物に関するものである。

(従来の技術)

血液は流出してから10～20分以内に凝固が明瞭になる。この際生じる血餅はフィブリノーゲンがフィブリンへと転換するまでの一連の化学反応の最終産物である。フィブリンは相互に連結し、その過程で血餅中には赤血球が捕捉される。従っ

液の改良に多くの努力が費やされ、今日使用されているすべての抗凝固液は、抗凝固作用を有すると共に赤血球保護作用を有するものとされている。しかしながら、このような抗凝固液における赤血球保護作用は未だ十分であるとは言えないものであった。

ところで最近、塩化ビニル樹脂用可塑剤として汎用されるジ・2・エチルヘキシルフタレート

(DOP)には溶血抑制効果があることが明らかにされた(ブラッド 64 6 1270～(1984) [Blood 64 6 1270-(1984)]。しかしながら、これは、医療用塩化ビニル樹脂組成物として従来用いられているジ・2・エチルヘキシルフタレート可塑化塩化ビニル樹脂製の保存容器で血液を保存すると、血液中に溶出したジ・2・エチルヘキシルフタレートにより血小板の凝集能が抑制されることが報告され(日本輸血学会雑誌、28(3)282(1981))、ジ・2・エチルヘキシルフタレートが輸血の際に保存血と共に体内に入る事が血小板への影響の面から問題があり好ましくなく、この問題を解決す

て、輸血用の血液は液状のままであるように、正常の血液凝固反応を阻止する方法を講じつつ採血されなければならない、従来、採血された血液に血液保存液として抗凝固液を添加することが行なわれている。今日使用されている抗凝固液は、凝固の過程で重要な因子であるカルシウムを結合して凝固を阻止するものである。

ところで、このようにして採血された血液は、必要に応じて成分分離された後、使用に供するまで血液バッグ等に入れられて保存されるが、全血もしくは赤血球濃厚液(CRC)などの成分血液を長期間保存すると、赤血球膜が破壊されヘモグロビンが外界に遊離するいわゆる溶血現象が生じる。溶血の生じる主要因としては、血液中のイオン組成の差から生じる浸透圧の変化、ヘモグロビンなどのタンパク質成分によるコロイド浸透圧の差異、赤血球の膜タンパク質および脂質の変化、 Na^+ や K^+ の能動輸送の障害、薬剤や毒物の作用などが挙げられるが、最も重要な要因は使用される抗凝固液にある。このため、従来より抗凝固

るために保存容器をジ・2・エチルヘキシルフタレートを含まない材質に代えたところ、保存中における赤血球の溶血が著しく発生したことからつきとめられたものである。

したがって、このような現象に対する対応策として、可塑剤が溶出ししない(もしくは可塑剤を含まない)材質よりなる保存容器に保存した血液に、ジ・2・エチルヘキシルフタレートを添加して溶血を抑制するといった矛盾した方法(米国特許第6326025号)が提案されているものの、ジ・2・エチルヘキシルフタレートを血液保存液ないしは抗凝固剤に配合して使用することは、生理学的安全性の面で好ましいこととは言えないものであった。

(発明が解決しようとする問題点)

従って、本発明は新規な血液保存液組成物を提供することを目的とする。本発明はまた赤血球の保存性に優れかつ安全性の高い血液保存液組成物を提供することを目的とする。本発明はまた血小板凝集能を低下させる恐れのない血液保存液組成

物を提供することを目的とする。本発明はさらに長期間の血液の保存を可能とする血液保存液組成物を提供することを目的とする。本発明はまた抗凝固液およびアディティブ システム [Additive System] における保存液組成物として使用することができる血液保存液組成物を提供することを目的とする。

(問題点を解決するための手段)

上記諸目的は、一般式 (I)



(但し式中RおよびR' はそれぞれ炭素数3以上の鎖式炭化水素基であり、かつRとR' との炭素数の和が11〜30である。) で表されるモノカルボン酸エステルからなる溶血防止剤と、他の血液保存液成分が配合されていることを特徴とする血液保存液組成物により達成される。

本発明はまた、血液保存液が抗凝固保存液である血液保存液組成物を示すものである。本発明はさらに、他の血液保存液成分として、クエン酸ナトリウム、クエン酸、ブドウ糖、リン酸一ナトリ

ウム、アデニン、塩化ナトリウム、マンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖および乳糖からなる群から選ばれた少なくとも1種の化合物を含有するものである血液保存液組成物を示すものである。本発明はまた、ACD液、CPD液、CPDA-1液、CPDA-2液、SAG液、およびマンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖または乳糖を添加してなるSAG液からなる群から選ばれた基本液に一般式 (I) で表されるモノカルボン酸エステル化合物を配合するものである血液保存液組成物を示すものである。本発明はさらに、一般式 (I) におけるRまたはR' の少なくとも一方が分岐構造を有するものである血液保存液組成物を示すものである。本発明はさらにまた、一般式 (I) で表わされる化合物が、イソプロピルイソラウレート、イソプロピルオレエート、2-エチルヘキシルイソステアレートまたは2-エチルヘキシル-2-エチルヘキサノエートである血液保存液組成物を示すものである。本発明はまた、一

般式 (I) で表されるモノカルボン酸エステル化合物が、最終濃度で100 μM〜10 mMとなるように配合されてなる血液保存液組成物を示すものである。本発明はさらに、一般式 (I) で表されるモノカルボン酸エステル化合物が、最終濃度で400 μM〜4 mMとなるように配合されてなる血液保存液組成物を示すものである。

(作用)

しかし、本発明の血液保存液組成物は、一般式 (I)



(但し式中RおよびR' はそれぞれ炭素数3以上の鎖式炭化水素基であり、かつRとR' との炭素数の和が11〜30である。) で表わされるモノカルボン酸エステルを配合されていることを最大の特徴とする。驚くべきことにこの一般式 (I) で表わされるモノカルボン酸エステルは、ジ-2-エチルヘキシルフタレートと同様な赤血球溶血防止作用を有し、また一方、ジ-2-エチルヘキシルフタレートとは異なり、血小板凝集能を抑制

する作用は認められないことが見出された。さらにこの一般式 (I) で表されるモノカルボン酸エステル化合物は、血液成分に対して悪影響を与えない適当な界面活性剤あるいはα-シクロデキストリンなどを用いることによって水溶液中に分散させることが可能であり、このような形態においても上記のごとき赤血球溶血防止作用を有することから、該モノカルボン酸エステルを血液保存液組成物に配合すれば、生体に体する安全性に優れかつ赤血球に対する保護作用に優れたものとなるものである。このため本発明の血液保存液組成物を全血あるいは赤血球濃厚液等の赤血球懸濁液中に添加することによって、長期間大部分の赤血球が採血直後と同じ状態を維持できるものであり、保存血輸血における問題を解消できるものとなる。

以下、本発明を実施態様に基づきより詳細に説明する。

本発明の血液保存液組成物には、一般式 (I)



(但し式中RおよびR' はそれぞれ炭素数3以上、

好ましくは3~22、最も好ましくは3~18の鎖式炭化水素基であり、かつRとR'との炭素数の和が11~30、好ましくは11~21である。)で表されるモノカルボン酸エステルが配合されている。この一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物は本発明の血液保存液組成物において赤血球保護作用をもたらすものである。

一般式(I)で表わされるモノカルボン酸エステルにおいて、RおよびR'の炭素数を3以上とするのは、炭素数が3未満の鎖式炭化水素鎖である場合、化合物の毒性が生じる虞れがあるため血液保存液組成物中に配合することが適当でなくなるためである。また、一般式(I)で表わされるモノカルボン酸エステルにおいて、RとR'との炭素数の和を11~30とするのは、炭素数の和が11未満であると溶血防止作用を有せず、一方炭素数の和が30を越えると該カルボン酸モノエステル化合物が全血、赤血球濃厚液などの赤血球懸濁液の保存温度域において固体となり赤血球懸濁液中にうまく分散することが困難となるために

赤血球保護作用が望めないものとなるためである。また一般式(I)であるモノカルボン酸エステルにおいて鎖式炭化水素基RおよびR'のうち少なくとも一方が分岐構造をとることが溶血防止効果を高める上からより好ましい。さらに鎖式炭化水素基RおよびR'は飽和鎖式炭化水素基であってもまた不飽和鎖式炭化水素基であってよい。一般式(I)で表わされるモノカルボン酸エステルとしては具体的に、2-エチルヘキシルブチレート、2-エチルヘキシルイソブチレート、イソヘプタチルバレート、2-エチルヘキシルバレート、イソヘプタチルピバレート、2-エチルヘキシルピバレート、イソペンチルヘキサノエート、イソヘキシルヘキサノエート、2-エチルヘキシルヘキサノエート、イソブチル・2-エチルヘキサノエート、イソペンチル・2-エチルヘキサノエート、2-エチルヘキシル・2-エチルヘキサノエート、イソプロピルデカノエート、イソブチルデカノエート、2-エチルヘキシルデカノエート、イソプロピルラウレート、イソブチルラウレート、

2-エチルヘキシルラウレート、2-エチルヘキシルイソラウレート、イソプロピルミリステート、イソブチルミリステート、2-エチルヘキシルミリステート、イソプロピルパルミテート、イソブチルパルミテート、2-エチルヘキシルパルミテート、イソプロピルステアレート、イソブチルステアレート、2-エチルヘキシルステアレート、イソプロピルイソステアレート、イソブチルイソステアレート、2-エチルヘキシルイソステアレート、イソプロピルオレエート、イソブチルオレエート、2-エチルヘキシルオレエートなどが挙げられるがもちろんこれらに限定されるわけではない。これらの化合物のうち好ましくは、イソプロピルイソラウレート、イソプロピルオレエート、2-エチルヘキシルイソステアレート、および2-エチルヘキシル・2-エチルヘキサノエートであり、最も好ましくはイソプロピルイソラウレートである。

上記のごとき一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物を本発明の血液保存液組成

物中に均一に分散させて配合するには、血液成分に対して悪影響を与えない界面活性剤、例えばポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート(Tween20)、ポリオキシエチレンソルビタミンモノパルミテート(Tween40)、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート(Tween60)、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(Tween80)などのポリオキシエチレンソルビタンモノエステル類(Tweenシリーズなど)、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー類(Piuradot HA-430 BASF社など)、ソルビタンモノアシルラウレート(Span20)、ソルビタンモノアシルパルミテート(Span40)、ソルビタンモノアシルステアレート(Span60)、ソルビタンモノアシルオレエート(Span80)などのソルビタンモノアシルエステル類(Spanシリーズなど)等あるいは硬化ひまし油などを用いてエマルジョンの形態とする、または α -シクロデキストリンなどを用いて包接化合物の形態とすることなどにより好適に行なわれ得る。もちろんこれらの界面活性剤ある

いは α -シクロデキストリンなどの添加量は生理的安全性の面から最小濃度とされることが望ましい。驚くべきことに一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物はこのような形態においても赤血球保護作用を有するものである。本発明の血液保存液組成物において一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物は、該モノカルボン酸エステル化合物の種類によっても異なるが、この血液保存液組成物が添加される保存血液中において最終濃度で $100\mu\text{M}\sim 10\text{mM}$ 、より好ましくは $400\mu\text{M}\sim 4\text{mM}$ となるように配合されることがより高い赤血球保護作用をもたらす上から望まれる。

本発明の血液保存液組成物中に含まれるその他の成分としては、例えば採血された全血に添加される抗凝固液、あるいはアディティブシステムにおいて赤血球濃厚液に添加される血球保存液組成物等として従来公知の血液保存液組成物中に含まれるものと同様の成分、例えばクエン酸ナトリウム、クエン酸、ブドウ糖、リン酸一ナトリウ

ム、アデニン、塩化ナトリウム、マンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖、乳糖などが含まれ得る。具体的には、本発明の血液保存液組成物は、ACD液(Acid citrate dextrose anticoagulant solution)、CPD液(Citrate phosphate dextrose anticoagulant solution)、CPDA-1液(Citrate phosphate dextrose(1.25 x CPD) plus 0.25mM adenine)、CPDA-2液(Citrate phosphate dextrose(1.75 x CPD) plus 0.50mM adenine)などの抗凝固液、あるいはSAG液(Saline-adenine-glucose solution)もしくはマンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖または乳糖を添加してなるSAG液(特開昭56-139419号)などの血球保存液組成物等を基本液として、これに上記のごとき一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物を配合したものとして調製されることが望ましい。しかしながら本発明の血液保存液組成物はもちろんこれらの組成に何ら限定されるものではなく、上記一般式(I)

で表されるモノカルボン酸エステル化合物が配合されかつ生理的に安全な組成のものであればいかなるものであってもよい。

なお、本発明に係わる血液保存液組成物は、血液に直接添加する場合の他に、予め、血液バッグ等の医療用具に収納しておいて採血時に混合するようにしてもよい。

(実施例)

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明する。

実施例1

SAG液(140mM NaCl 、 1.25mM アデニン、 50mM ブドウ糖)に、トウイーン80(和光純薬(株)製、特級)を $600\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように溶解し、この溶液にイソプロピルイソラウレート 12mM を添加し、均一に分散させてエマルジョンとした。このようにして調製されたエマルジョン溶液 1.0ml をヘマトクリット値約70%に調整したヒト赤血球濃厚液 2.0ml に加え栓付きポリプロピレン製チューブを用いて

4°C で静置保存した。5週間経過後、血漿中の遊離ヘモグロビン濃度をTMB法(クリニカルケミストリー 23 749~(1977)) [Clin. Chem. 23 749- (1977)]で測定した。結果を第1表に示す。

実施例2

イソプロピルイソラウレートの添加量を 1.2mM とする以外は実施例1と同様にして血液保存液を調製し、実施例1と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

実施例3

イソプロピルイソラウレーに代えて2-エチルヘキシルイソステアレートを用いる以外は実施例1と同様にして血液保存液を調製し、実施例1と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

実施例4

2-エチルヘキシルイソステアレートの添加量を 1.2mM とする以外は実施例3と同様にして

血液保存液を調製し、実施例1と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

比較例1

比較のために一般式(I)の範囲外のモノカルボン酸エステル化合物であるエチル-2-エチルヘキサノエートを、イソプロピルイソラウレートに代えて用いる以外は実施例1と同様にして血液保存液を調製し、実施例1と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

比較例2

エチル-2-エチルヘキサノエートの添加量を1.2 mMとする以外は比較例1と同様にして血液保存液を調製し、比較例1と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

比較例3

比較のために溶血防止作用を有する公知の化合物であるジ-2-エチルヘキシルフタレート、

イソプロピルイソラウレートに代えて用いる以外は実施例1と同様にして血液保存液を調製し、実施例1と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

比較例4

ジ-2-エチルヘキシルフタレートの添加量を1.2 mMとする以外は比較例3と同様にして血液保存液を調製し、比較例3と同様にして血漿中の遊離ヘモグロビン濃度の変化を調べた。結果を第1表に示す。

実施例	添加物	赤血球濃度(%) 保存液の最終濃度(mM)	血漿中の遊離ヘモグロビン濃度(mg/dl)
実施例1	イソプロピルイソラウレート	4.0	230
実施例2	イソプロピルイソラウレート	0.4	86
実施例3	ジ-2-エチルヘキシルフタレート	4.0	97
実施例4	ジ-2-エチルヘキシルフタレート	0.4	214
比較例1	エチル-2-エチルヘキサノエート	4.0	722
比較例2	エチル-2-エチルヘキサノエート	0.4	189
比較例3	イソプロピルイソラウレート	4.0	78
比較例4	イソプロピルイソラウレート	0.4	85
ブランク		-	207

第1表から明らかなように本発明に係わる一般式(I)で表わされるモノカルボン酸エステル化合物を配合した血液保存液組成物(実施例1~4)は、ジ-2-エチルヘキシルフタレートを配合したもの(比較例3~4)と同様に溶血抑制作用を発揮しているが、本発明の範囲外のモノカルボン酸エステル化合物であるエチル-2-エチルヘキサノエートを配合したもの(比較例1~2)はほとんど溶血抑制作用がないかあるいは逆に溶血を引き起こすものであった。

参考実験

イソプロピルイソラウレートの40 mMメタノール溶液(参考例)、ジ-2-エチルヘキシルフタレートの40 mMメタノール溶液(対照例1)または何も添加していないメタノール(対照例2)を、ヒト多血小板血漿(血小板数約30万/mm³)に1/100量加え、室温で2時間放置後アグリコーダー(京都第一科学製)を用いて血小板凝集能を測定した。

なお、多血小板血漿溶液のみ(ブランク)の光

の最大透過率に対する各試料添加多血小板血漿溶液の光透過率の百分率を凝集率として表した。また凝集惹起物質には5 μ M ADP (アデノシン二リン酸)と5 μ g/mlコラーゲンをを用いた。得られた結果を第2表に示す。

試料	血小板凝集率(%)	
	5 μ M ADP	凝集惹起物質 2 μ g/mlコラーゲン
参考例		
イソプロピルイソ ラウレート	99.3	101.6
対照例1		
ジ-2-エチルヘキ シルタレート	92.1	89.6
対照例2		
メタノールのみ	100	97.9
ブランク	100	100

第2表に示すようにジ-2-エチルヘキシルフタレートには血小板の凝集能回復に対する抑制作用がみられる。これはジ-2-エチルヘキシルフタレートが体内に入った時に血小板機能を阻害する可能性があることを示唆するものであり、血液保存液組成物に配合することが適当でないことを示すものである。これに対し、イソプロピルイソラウレートにはこのような抑制作用は認められず、より安全性の高い物質であるといえることから、本発明に係る血液保存液組成物が血小板に与える影響も少ないことがわかる。

(発明の効果)

以上述べたように本発明は、一般式(I)



(但し式中RおよびR'はそれぞれ炭素数3以上の鎖式炭化水素基であり、かつRとR'との炭素数の和が11~30である。)で表されるモノカルボン酸エステルからなる溶血防止剤と、他の血液保存液成分が配合されていることを特徴とする血液保存液組成物であるから、赤血球に対する保

護作用に優れ、かつその他の血液成分に対する悪影響も少ないものであることから、赤血球の保存性に優れかつ生理的安全性の高い血液保存液組成物であるということができ、全血、赤血球濃厚液等に添加された際において、長期間にわたり多くの赤血球を採血直後と同じ状態に維持できるとなり、血液保存において大きな利点をもたらすものである。さらに本発明の血液保存液組成物において、血液保存液が抗凝固保存液である場合、さらに、他の血液保存液成分として、クエン酸ナトリウム、クエン酸、ブドウ糖、リン酸一ナトリウム、アデニン、塩化ナトリウム、マンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖および乳糖からなる群から選ばれた少なくとも1種の化合物を含有するものである場合、さらに、ACD液、CPD液、CPDA-1液、CPDA-2液、SAG液、およびマンニトール、マルトース、マルチトール、ソルビトール、ショ糖または乳糖を添加してなるSAG液からなる群から選ばれた基本液に一般式(I)で表されるモノカル

ボン酸エステル化合物が配合される場合、また一般式(I)におけるRまたはR'の少なくとも一方が分岐構造を有するものである、より望ましくは、イソプロピルイソラウレート、イソプロピルオレエート、2-エチルヘキシルイソステアレートまたは2-エチルヘキシル-2-エチルヘキサノエートであり、さらに一般式(I)で表されるモノカルボン酸エステル化合物が、最終濃度で100 μ M \sim 10 μ M、より好ましくは400 μ M \sim 4 μ Mとなるように配合されてなるものであると、赤血球に対する保護作用および生理的安全性はさらに優れたものとなり、より一層の効果が期待できるものとなる。

特許出願人 テ ル モ 株 式 会 社
 花 王 株 式 会 社

代理人 弁理士 八 田 幹 雄